



**PENGUJIAN TEKNIK PENYIMPANAN NITROGEN CAIR
TERHADAP DAYA TUMBUH *ARTIFICIAL SEED* KAKAO**

*Examination of Storage Technique by Liquid Nitrogen to Viability
of Cocoa Artificial Seeds*

TESIS

MAGISTER PERTANIAN

Oleh:

**FATIMATUZ ZUHRO
061520101021**

**PROGRAM STUDI AGRONOMI
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS JEMBER
2009**



**PENGUJIAN TEKNIK PENYIMPANAN NITROGEN CAIR
TERHADAP DAYA TUMBUH *ARTIFICIAL SEED* KAKAO**

*Examination of Storage Technique by Liquid Nitrogen to Viability
of Cocoa Artificial Seeds*

**TESIS
MAGISTER PERTANIAN**

**Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat untuk Menyelesaikan
Pendidikan Magister Pertanian Program Studi Agronomi
Program Pascasarjana Universitas Jember.**

Oleh:

**FATIMATUZ ZUHRO
061520101021**

**PROGRAM STUDI AGRONOMI
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS JEMBER
2009**



**PENGUJIAN TEKNIK PENYIMPANAN NITROGEN CAIR
TERHADAP DAYA TUMBUH ARTIFICIAL SEED KAKAO**

*Examination of Storage Technique by Liquid Nitrogen to Viability
of Cocoa Artificial Seeds*

**TESIS DISERAHKAN KEPADA PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS JEMBER UNTUK MEMENUHI SALAH SATU SYARAT
MEMPEROLEH GELAR**

MAGISTER PERTANIAN

Oleh:

FATIMATUZ ZUHRO

061520101021

Pembimbing Tesis:

Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si. (DPU)

Dr. Ir. A. Adi Prawoto, SU. (DPA)

**PROGRAM STUDI AGRONOMI
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS JEMBER**

2009

PENGESAHAN

Tesis berjudul *Pengujian Teknik Penyimpanan Nitrogen Cair terhadap Daya Tumbuh Artificial Seed Kakao* telah diuji dan disahkan oleh Program Pascasarjana Universitas Jember pada:

Hari : Rabu

Tanggal : 11 Maret 2009

Tempat : Ruang Sidang Pascasarjana Universitas Jember

Tim Penguji
Ketua,

Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si.
NIP. 132.288.239

Anggota I,

Anggota II,

Dr. Ir. A. Adi Prawoto, SU.
NIK. 111.000.158

Dr. Ir. Sri Hartatik, MS.
NIP. 131.274.725

Mengetahui/Menyetujui
Ketua Program Studi,

Dr. Ir. Ketut Anom Wijaya
NIP. 131.474.910

Direktur Program Pascasarjana,

Prof. Dr. Akhmad Khusyairi, MA.
NIP. 130.261.689

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fatimatuz Zuhro

NIM : 061520101021

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: **Pengujian Teknik Penyimpanan Nitrogen Cair terhadap Daya Tumbuh *Artificial Seed* Kakao** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia menerima sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, April 2009

Yang menyatakan,

Fatimatuz Zuhro
NIM: 061520101021

PERSEMBAHAN

Tesis ini saya persembahkan untuk :

Suamiku :

Atas cinta kasih, kesabaran, bimbingan, motivasi, dan doa yang setiap saat mewarnai hari-hariku.....

Bayiku:

Semoga ade' kecil selalu aman di perut bunda, keluar dengan selamat, menjadi anak yang shaleh/ah dan berguna bagi agama, keluarga, bangsa, dan masyarakat.....

Orang tuaku:

Mimy, engkau wanita hebat, perjuanganmu untuk anak-anakmu tak kan dapat terbalas oleh apapun, semoga Allah selalu melimpahkan rahmatNya buat Mimy.....

Bapak, semoga kebaikan dan kebahagiaan selalu menyertaimu

Bu lek & Pak Lek di Jember :

Kalian seperti orang tuaku sendiri. Merawat dan membimbingku dengan cinta ikhlas yang tak terbatas. Limpahan rasa syukur kepada Allah karena telah menghadirkan Bu lek & Pak Lek dalam hidupku. Semoga Allah selalu menjadikan keluarga Bu lek & Pak lek menjadi sakinah, mawaddah, warahmah.....

Mbah Uti, Almarhum Mbah Kakung, & Segenap Keluarga Besar
(Pak Lek & Bulek di Banyuwangi, Pak De, Bude, serta keluarga)

Atas kesabaran dalam merawat dan membimbingku, mengajari kebaikan dengan tulus & ikhlas.....

Adik-adikku :

Piping, Ocia, Si Kembar (Yunus & Yusuf), Anis, Ima, Syifa, Lulu, Ulul, dan Nala yang telah banyak mendukung, mendoakan, dan mencerahkan hari-hariku

Teman-teman Agronomi BU 2006

Maci, Mbak Tri, Mbak Evi, Mbak Diah, Mbak Vivien, Mbak Hasni, Mas Didot, Mas Syirri, Mas Roni, Mas Arif, Mbak Nining, Mbak Lila, Mbak Norry, dan Mbak Ani.

Dan special untuk teman nge-lab: Mbak Eny, Bu Reny, Pak Eko, dan Mas Budi

..... I Love U.....

***Semoga Allah selalu melimpahkan rahmat dan hidayahNya

untuk kita semua***

.....Amin.....

MOTTO

Orang tak berilmu, telah mati sebelum mati

Orang berilmu, tetap hidup walaupun mati

(Drs. H. Alty As'ad, Terjemahan Ta'limul Muta'alim)

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Ilmiah Tertulis (tesis) yang berjudul **Pengujian Teknik Penyimpanan Nitrogen Cair terhadap Daya Tumbuh Artificial Seed Kakao** sebagai tugas akhir di Program Studi Agronomi Program Pascasarjana Universitas Jember.

Tesis ini disusun sebagai hasil percobaan di Laboratorium Kultur Jaringan Universitas Jember yang dilaksanakan pada bulan Oktober 2007 sampai Agustus 2008. Dana percobaan tersebut diperoleh dari proyek penelitian KKP3T yang diketuai oleh Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan tulisan ini terutama kepada:

1. **Menteri Pendidikan Nasional** yang telah memberikan dukungan pembiayaan melalui Program Beasiswa Unggulan hingga penyelesaian tugas akhir Tesis berdasarkan DIPA Sekretariat Jendral DEPDIKNAS dengan nomor kontrak perjanjian kerjasama beasiswa unggulan Program Studi Agronomi : 50921/A7.4/LN/2006, tanggal 01 November 2006, tahun anggaran 2006 sampai dengan tahun 2008.
2. **Dr. Gatot Sugeng Purwono, MS.**, sebagai Ketua Lembaga Pengkajian Masalah Sosial dan Pembangunan yang telah memberikan rekomendasi untuk mengikuti seleksi beasiswa Diknas dan memberikan ijin ikut perkuliahan.
3. **Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si.**, sebagai dosen pembimbing utama, **Dr. Ir. A. Adi Prawoto, SU.**, sebagai dosen pembimbing anggota, dan **Dr. Ir. Sri Hartatik, MS.**, sebagai anggota penguji tesis yang telah memberikan bimbingan dan arahan bagi penulis.
4. **Prof. Dr. A. Khusyairi, MA.**, sebagai direktur Program Pascasarjana, **Dr. Ir. Ketut Anom Wijaya** dan **Dr. Ir. Kacung Hariyono**, sebagai ketua dan sekretaris Program Studi Agronomi, seluruh dosen pengampu mata kuliah, seluruh staf akademik dan keuangan, rekan mahasiswa, dan semua pihak yang telah membantu, baik moral maupun material.

Penulis menyadari bahwa kesempurnaan bukan milik manusia, sehingga saran dan kritik dari pembaca akan diterima dengan senang hati oleh penulis.

Jember, April 2009

Penulis

DAFTAR ISTILAH

Istilah/ Singkatan

Kepanjangan/Definisi Singkat

- S0 Perlakuan pada media pre-kultur dengan konsentrasi sukrosa rendah (0,08 M)
- S1 Perlakuan pada media pre-kultur dengan konsentrasi sukrosa tinggi (0,3 M)
- D0 Perlakuan dehidrasi di atas *silica gel* selama 0 jam
- D1 Perlakuan dehidrasi di atas *silica gel* selama 1 jam
- D2 Perlakuan dehidrasi di atas *silica gel* selama 2 jam
- N0 Perlakuan penyimpanan dalam nitrogen cair selama 0 menit
- N1 Perlakuan penyimpanan dalam nitrogen cair selama 1 menit
- N2 Perlakuan penyimpanan dalam nitrogen cair selama 2 menit
- N3 Perlakuan penyimpanan dalam nitrogen cair selama 3 menit
- N4 Perlakuan penyimpanan dalam nitrogen cair selama 4 menit

RINGKASAN

Pengujian Teknik Penyimpanan Nitrogen Cair terhadap Daya Tumbuh *Artificial Seed* Kakao, Fatimatuz Zuhro, 061520101021. 2009. 53 Halaman: Program Studi Agronomi Pascasarjana Universitas Jember.

Penyimpanan benih kakao di lapangan dan dalam kultur jaringan dianggap kurang praktis karena beberapa hal, di antaranya; memerlukan lahan yang luas, adanya serangan hama dan penyakit, kemungkinan terjadi kebakaran lahan, kondisi iklim yang ekstrim, konflik sosial, alih fungsi lahan, dan untuk tanaman dalam kultur jaringan biasanya rentan terhadap kontaminan, membutuhkan proses sub kultur yang intensif, dan memungkinkan adanya variasi somaklonal seiring waktu kultur yang lama. Bibit kakao hasil kultur jaringan juga masih membutuhkan pengemasan dalam botol yang memerlukan volume, luas, dan ruang yang besar (*voluminous*), serta memerlukan masukan energi listrik yang konstan. Salah satu langkah alternatif solusinya adalah dengan membuat *artificial seed* kakao melalui proses enkapsulasi, yang disertai dengan perlakuan awal (*pre-treatment*), dan selanjutnya *artificial seed* disimpan dalam nitrogen cair agar memiliki daya simpan yang lebih lama dan daya tumbuh yang tetap baik setelah penyimpanan dalam nitrogen cair. Teknik penyimpanan dalam nitrogen cair tersebut mengacu pada pada teknik kriopreservasi.

Kriopreservasi merupakan sebuah metode untuk melindungi biji tanaman dengan memasukkannya di dalam nitrogen cair pada temperatur yang sangat rendah hingga mencapai -196°C . Kondisi demikian menyebabkan sel-sel biji mengalami aktivitas metabolisme yang sangat rendah. Tujuan percobaan ini adalah untuk memperoleh 1). *Artificial seed* kakao dengan teknik enkapsulasi; 2). Teknik penyimpanan nitrogen cair yang tepat untuk menjaga daya simpan benih kakao; dan 3). *Artificial seed* kakao yang tidak *voluminous*, memiliki daya simpan yang lebih lama daripada benih konvensional dan memiliki pertumbuhan yang baik setelah penyimpanan dalam nitrogen cair.

Percobaan dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Eksplan yang digunakan adalah embrio zigotik kakao yang

dienkapsulasi dengan Natrium Alginat. Pertumbuhan embrio yang terenkapsulasi setelah penyimpanan dalam nitrogen cair dicapai melalui optimasi krioprotektan (sukrosa) dan lama perlakuan dehidrasi di atas *silica gel*. Hasil percobaan dianalisis berdasarkan data kualitatif berupa gambar dan data kuantitatif berupa rata-rata dan persentase beberapa parameter pertumbuhan.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa enkapsulasi embrio zigotik kakao sebaiknya dilakukan dalam Natrium Alginat (konsentrasi 2,5%) tanpa penambahan gula untuk meminimalisasi kontaminasi oleh bakteri atau jamur. Teknik penyimpanan nitrogen cair pada percobaan ini dapat menyimpan *artificial seed* kakao selama maksimal 4 menit, dengan persentase kehidupan setelah penyimpanan sebesar 77,78%. Perlakuan pre-kultur pada sukrosa yang lebih tinggi memberikan pengaruh yang lebih baik terhadap persentase pertumbuhan kembali embrio zigotik (82,22%), jumlah akar serabut dan tunas baru (2 kali lebih tinggi) daripada perlakuan pre-kultur pada konsentrasi sukrosa yang lebih rendah (71,11%). Beberapa kombinasi perlakuan yang cenderung berpengaruh paling baik terhadap parameter panjang akar dan tunas primer, panjang akar serabut dan tunas baru, serta jumlah akar serabut dan tunas baru secara berturut-turut adalah S1D2N0 dan S0D2N0, S1D1N0 dan S1D1N2, serta S1D0N2 dan S0D0N1.

PENGUJIAN TEKNIK PENYIMPANAN NITROGEN CAIR TERHADAP DAYA TUMBUH *ARTIFICIAL SEED* KAKAO

ABSTRAK

Oleh : Fatimatuz Zuhro

Pembimbing Utama : Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si.

Pembimbing Anggota : Dr. Ir. A. Adi Prawoto, SU.

Kriopreservasi merupakan sebuah metode untuk melindungi biji tanaman dengan memasukkannya di dalam nitrogen cair pada temperatur mencapai -196°C , sehingga menyebabkan sel-sel biji mengalami aktivitas metabolisme yang sangat rendah. Tujuan percobaan ini adalah untuk memperoleh 1). *Artificial seed* kakao dengan teknik enkapsulasi; 2). Teknik penyimpanan nitrogen cair yang tepat untuk menjaga daya simpan benih kakao; dan 3). *Artificial seed* kakao yang tidak memerlukan volume ruang simpan yang besar, memiliki daya simpan yang lebih lama daripada benih konvensional dan memiliki daya tumbuh yang baik setelah penyimpanan dalam nitrogen cair. Percobaan dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Eksplan yang digunakan adalah embrio zigotik kakao yang dienkapsulasi dengan Natrium Alginat. Pertumbuhan embrio yang terenkapsulasi dicapai melalui optimasi krioprotektan (sukrosa) dan lama perlakuan dehidrasi. Hasil percobaan menunjukkan bahwa enkapsulasi embrio zigotik kakao sebaiknya dilakukan dalam Natrium Alginat (konsentrasi 2,5%) tanpa penambahan gula untuk meminimalisasi kontaminasi oleh bakteri atau jamur. Teknik penyimpanan nitrogen cair pada percobaan ini dapat menyimpan *artificial seed* kakao selama maksimal 4 menit, dengan persentase kehidupan sebesar 77,78%. Pre-kultur pada media sukrosa konsentrasi tinggi memberikan pengaruh yang lebih baik terhadap persentase pertumbuhan kembali embrio zigotik (82,22%), jumlah akar serabut dan tunas baru (2 kali lebih tinggi) daripada pre-kultur pada konsentrasi sukrosa yang lebih rendah (71,11%). Beberapa kombinasi perlakuan yang cenderung berpengaruh paling baik terhadap parameter panjang akar dan tunas primer, panjang akar serabut dan tunas baru, serta jumlah akar serabut dan tunas baru secara berturut-turut adalah S1D2N0 dan S0D2N0, S1D1N0 dan S1D1N2, serta S1D0N2 dan S0D0N1.

Kata Kunci: kakao, kriopreservasi, krioprotektan, dehidrasi, enkapsulasi.

EXAMINATION OF STORAGE TECHNIQUE BY LIQUID NITROGEN TO VIABILITY OF COCOA ARTIFICIAL SEEDS

ABSTRACT

By : Fatimatuz Zuhro
Supervisor : Dr. Ir. Sholeh Avivi, M.Si.
Co-Supervisor : Dr. Ir. A. Adi Prawoto, SU.

Cryopreservation is a method of plant seed protection by inserting explants into liquid nitrogen at temperature of -196°C , so metabolism activities of the seed cells was certainly lowed. This experiment is intended to obtain 1). Artificial seeds of cocoa by encapsulation technique; 2). Precise storage technique of liquid nitrogen to keep storability of cocoa seeds; and 3). Artificial seeds of cocoa that are not voluminous, have longer storability than conventional seeds and have better viability after storage in liquid nitrogen. The experiment was conducted at Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Jember. Explants used were zygotic embryos of cocoa which were encapsulated by Natrium Alginate. The growth of encapsulated embryos is achieved through cryoprotectant optimization (sucrose) and length of dehydration treatment. The results of experiment showed that encapsulation of zygotic embryos of cocoa should ideally be done in Natrium Alginate (concentration of 2,5%) without adding sugar in order to minimize contamination by bacteria or fungi. Storage technique of liquid nitrogen in this experiment could store artificial seeds of cocoa within maximally 4 minutes, growth percentage of 77,78%. Pre-culture of sucrose media with high concentration provided better effect on regrowth percentage of zygotic embryos (82,22%), feeder root and new buds (2 times higher) than pre-culture on lower sucrose concentration (71,11%). Some combinations of treatments that tended to provide the best effect on parameters of length of root and primary buds, length of feeder root and new buds as well as number of feeder roots and new buds were S1D2N0 and S0D2N0, S1D1N0 and S1D1N2, as well as S1D0N2 and S0D0N1.

Keywords: cocoa, cryopreservation, cryoprotectant, dehydration, encapsulation.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
HALAMAN MOTTO	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISTILAH.....	ix
RINGKASAN	xi
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xv
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan dan Manfaat.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Karakteristik Kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	5
2.2 Enkapsulasi Kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	6
2.3 Kriopreservasi <i>Artificial Seed</i> Kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	9

III. METODOLOGI

3.1. Tempat dan Waktu Percobaan	12
3.2. Bahan dan Alat	12
3.3. Metode	12
3.3.1 Pre-kultur Embrio Zigotik Kakao.....	12
3.3.2 Enkapsulasi, Dehidrasi, dan Penyimpanan <i>Artificial Seed</i> Kakao dalam N ₂ Cair.....	13
3.4. Prosedur Pengamatan dan Analisis Data.....	13

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Enkapsulasi dan Penyimpanan Embrio Zigotik Kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.) dalam Nitrogen (N ₂) Cair	15
4.2. Kemampuan Hidup Kembali <i>Artificial Seed</i> Kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.) dan Daya Tumbuhnya	20

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan	35
5.2. Saran	36

DAFTAR PUSTAKA	37
----------------------	----

LAMPIRAN.....	46
---------------	----

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul	Halaman
1.	Data Persentase Kemunculan Akar Serabut dan Tunas Baru Embrio Zigotik Kakao setelah Penyimpanan dalam Nitrogen Cair.....	22
2.	Data Pertumbuhan Embrio Zigotik Kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.) dalam Media Sukrosa setelah Penyimpanan dalam Nitrogen Cair.....	23
3.	Jumlah <i>Artificial Seed</i> Kakao yang Bertahan Hidup setelah Penyimpanan dalam Nitrogen Cair.....	25
4.	Rata-rata Panjang Akar dan Tunas Primer (cm) Embrio Zigotik Kakao Minggu pada Ke-4.....	27
5.	Rata-rata Panjang Akar Serabut dan Tunas Baru (cm) Embrio Zigotik Kakao pada Minggu Ke-4.....	30
6.	Rata-rata Jumlah Akar Serabut dan Tunas Baru Per-eksplan Embrio Zigotik Kakao pada Minggu Ke-4.....	32

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
1.	<i>Artificial seed</i> Embrio Terung (<i>Solanum melongena</i> L.).....	8
2.	Konsep <i>Artificial Seed</i>	8
3.	Proses Penumbuhan Embrio Zigotik Kakao pada Media Pre-kultur sampai Penyimpanannya dalam N ₂ Cair.....	16
4.	Embrio Kakao Perlakuan S1D0N2.....	21
5.	<i>Artificial seed</i> kakao setelah Penyimpanan dalam N ₂ Cair Selama 4 menit.....	25
6.	Eksplan S1D2N0 dan S0D2N0.....	29
7.	Eksplan S1D1N0 dan S1D1N2.....	31
8.	Eksplan S1D0N2 dan S0D0N1.....	33

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul	Halaman
1.	Tabel Jumlah <i>Artificial Seed</i> Kakao yang Bertahan Hidup setelah Penyimpanan dalam Nitrogen Cair.....	47
2.	Tabel Panjang Akar Primer (cm) Embrio Zigotik Kakao pada Minggu Ke-4.....	48
3.	Tabel Panjang Tunas Primer (cm) Embrio Zigotik Kakao pada Minggu Ke-4.....	49
4.	Tabel Panjang Akar Serabut (cm) Embrio Zigotik Kakao pada Minggu Ke-4	50
5.	Tabel Jumlah Akar Serabut Per-eksplan yang Muncul pada Minggu Ke-4.....	51
6.	Tabel Panjang Tunas Baru (cm) Embrio Zigotik Kakao pada Minggu Ke-4.....	52
7.	Tabel Jumlah Tunas Baru Per-eksplan yang Muncul pada Minggu Ke-4.....	53